

# Produksi Hidrolisat Keratin dari Bulu Domba Limbah Industri Penyamakan Kulit Menggunakan Kombinasi Basa dan Enzim

Rahmawati, D., dan Griyanitasari, G.

**Abstrak**—Limbah buang bulu yang dihasilkan pada proses penyamakan kulit menimbulkan permasalahan dalam penanganannya karena limbah ini tidak dapat segera terdegradasi. Struktur utama bulu berupa protein keratin. Protein keratin dapat dihidrolisis untuk menghasilkan hidrolisat keratin yang dapat dimanfaatkan diantaranya untuk bahan kosmetik. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi enzim terhadap kadar protein, kadar air, kadar sulfur, dan gugus fungsi FTIR. Bahan bulu yang digunakan adalah bulu domba limbah unhairing konvensional. Hidrolisis dilakukan dalam 2 tahap, yaitu basa dan enzimatis. Bulu domba dihidrolisis menggunakan larutan basa 0,5 M NaOH selama 24 jam dilanjutkan dengan hidrolisis menggunakan enzim protease dengan konsentrasi 0, 2, 4, 6, 8% dan waktu 18 jam. Kadar protein keratin tertinggi pada konsentrasi enzim protease 8% dan paling rendah pada konsentrasi enzim 6%. Gugus fungsi FTIR tidak berbeda nyata pada tiap konsentrasi enzim.

**Kata Kunci**—Hidrolisat Keratin, Bulu Domba, Penyamakan Kulit, Enzim.

## I. PENDAHULUAN

Industri penyamakan kulit adalah salah satu industri yang menghasilkan limbah dalam jumlah banyak. Limbah bulu dari proses buang bulu pada industri penyamakan kulit dapat mencapai 20-30% dari berat kulit yang dihasilkan [1]. Limbah bulu tidak mudah terdegradasi sehingga menimbulkan permasalahan dalam penanganannya. Limbah ini dapat menyebabkan polusi dan menyebabkan masalah kesehatan manusia. Penimbunan atau cara landfill dapat mengganggu kesuburan tanah dan fungsi-fungsi tanah lainnya.

Bulu merupakan struktur epidermis yang membentuk penutup luar dari tubuh. Kandungan utamanya berupa protein keratin. Keratin adalah protein yang keras dan berserat, menjadi komponen utama rambut, bulu, kuku, wol, tanduk mamalia, reptil dan burung, dan merupakan polimer ketiga yang paling melimpah di lingkungan setelah selulosa dan kitin [2]. Keratin memiliki sifat biodegradabilitas dan biokompatibilitas yang unik dan tidak beracun. Keratin juga dapat dimodifikasi dan dikembangkan dalam berbagai bentuk seperti gel, film, butiran dan partikel nano / mikro.

Terdapat dua jenis protein keratin yaitu  $\alpha$  keratin dan  $\beta$

keratin [3].  $\alpha$  keratin adalah golongan keratin yang menyusun rambut sedangkan  $\beta$  keratin adalah golongan keratin yang mendominasi kuku, tanduk, cakar pada reptil dan paruh pada burung. Keratin adalah serat yang dapat diisolasi dari wol menjadi protein hidrolisat yang digunakan untuk berbagai aditif dalam beberapa jenis kosmetik [4].

Ada beberapa metode yang dapat diaplikasikan untuk membuat hidrolisat keratin, antara lain menggunakan basa NaOH, KOH, dan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Keratin juga dapat dihidrolisis menggunakan 7M urea, 6 gr SDS dan 15 ml 2-mercaptoethanol dalam 300 ml wadah, diproses dengan orbital shaker suhu  $60^\circ\text{C}$  selama 12 jam [5], menggunakan 0,5 mol/L larutan sodium sulfide ( $\text{Na}_2\text{S}$ ) dan 0,165 mol/L larutan L-cystein [2], bulu domba dapat dihidrolisis menggunakan 0,5M NaOH dan  $\text{H}_2\text{O}_2$  [1], [4], sedangkan [6] menghidrolisis bulu domba menggunakan kombinasi  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  dan enzim protease.

Untuk mendapatkan hidrolisat keratin dengan proses yang ramah lingkungan dan dengan menggunakan bahan yang mudah didapat, maka dilakukan hidrolisis menggunakan basa (NaOH) dan enzim protease. Enzim protease yang digunakan adalah enzim yang biasa dipakai dalam proses bating/pengikisan protein dalam proses penyamakan kulit. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengatasi masalah limbah padat industri penyamakan kulit dan mengubahnya menjadi barang yang bernilai. Dalam penelitian akan dilihat pengaruh konsentrasi enzim terhadap kadar protein, kadar air, kadar sulfur, gugus fungsi FTIR dan karakteristik thermal dari hidrolisat keratin.

## II. METODE PENELITIAN

### A. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bulu domba limbah penyamakan kulit dari proses buang bulu konvensional, enzim, sodium hidroksida (NaOH), asam klorida (HCl), aquades.

### B. Alat

Alat yang digunakan antara lain alat-alat gelas, pH meter, oven, timbangan analitik, kain saring, kompor gas, dan blender.

### C. Metode

Metode penelitian yang dilakukan berdasarkan penelitian sebelumnya [6] dengan modifikasi. Bulu domba limbah dicuci menggunakan air untuk menghilangkan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  dan

$\text{Na}_2\text{S}$  kemudian direbus menggunakan air pada suhu  $\pm 80^\circ\text{C}$  untuk mengurangi kandungan lemak/minyak pada bulu domba. Setelah itu dikeringkan di bawah sinar matahari dan dilakukan pengecilan ukuran  $\pm 1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$ .

Proses bulu domba menjadi hidrolisat keratin dilakukan dalam 2 (dua) tahap, yaitu hidrolisis menggunakan larutan basa  $\text{NaOH}$  0,5 N selama 24 jam kemudian ditambahkan  $\text{HCl}$  2 N sampai pH optimum enzim 7,5 – 9, dilanjutkan dengan hidrolisis menggunakan enzim protease 0, 2, 4, 6, 8% (dari berat bulu domba kering) dengan suhu  $60 \pm 2^\circ\text{C}$  selama 18 jam. Inaktivasi enzim dilakukan dengan pemanasan suhu  $85 \pm 2^\circ\text{C}$  selama 10 menit. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kain saring. Bulu yang tidak terdekomposisi dikeringkan pada suhu  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  sampai berat konstan, sedangkan filtrat yang diperoleh kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari dan dilakukan pengecilan ukuran menggunakan blender.

#### D. Pengujian

Pengujian yang dilakukan pada hidrolisat keratin meliputi uji kadar protein, kadar air, kadar sulfur, gugus fungsi Fourier Transform Infra-Red Spectroscopy (FTIR) dan karakteristik thermal menggunakan Thermogravimetric Analysis (TGA). Pengujian kadar protein, kadar lemak dan kadar air berdasarkan metode AOAC (AOAC, 2005).

Pengujian kadar sulfur. Ditimbang sampel sebanyak 2 gram ke dalam Crussibel Porcelain, kemudian abukan dalam Muffle Furnice hingga terbentuk abu. Setelah menjadi abu, abu dilarutkan dengan 25 ml  $\text{HNO}_3$  1 : 3, gerus menggunakan lumpang porcelain kemudian saring larutan menggunakan kertas saring. Ambil 5 ml filtrate jernih masukan ke dalam tabung centrifuge, tambahkan 5 ml larutan  $\text{BaCl}_2$  10% kemudian gojog larutan hingga terbentuk endapan. Sulfat dapat ditentukan dengan cara mengendapkannya dengan barium khlorida ( $\text{BaCl}_2$ ) untuk membentuk endapan barium sulfat ( $\text{BaSO}_4$ ). Partikel endapan  $\text{BaSO}_4$  terlalu kecil untuk disaring sehingga perlu didigest untuk membentuk kristal yang lebih besar. Proses ini menghasilkan kristal yang sukar larut. Pisahkan endapan yang terbentuk dengan cara larutan di centrifuge. Buang lapisan atas atau larutan jernih, kemudian sisa endapan dimasukkan dalam oven hingga tercapai berat konstan.

Pengujian gugus fungsi FTIR dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

*Thermogravimetric analysis* (TGA). Analisis termogravimetri dari hidrolisat keratin dilakukan dengan alat Shimadzu DTG 60 dengan laju pemanasan  $10^\circ\text{C min}^{-1}$  di bawah atmosfer udara dengan  $15 \text{ ml min}^{-1}$  aliran gas nitrogen. Sampel ditempatkan dalam panci alumina.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Bulu Domba Limbah

Hasil uji bulu domba limbah dari proses buang bulu konvensional setelah dilakukan pencucian dan pemanasan

diperoleh kadar protein 75,67%, kadar lemak 1,11%, sulfur 7,77%, kadar air 11,36%.

#### B. Karakterisasi Hidrolisat Keratin dari Bulu Domba Limbah Penyamakan Kulit Bulu Domba yang Tidak Terhidrolisis

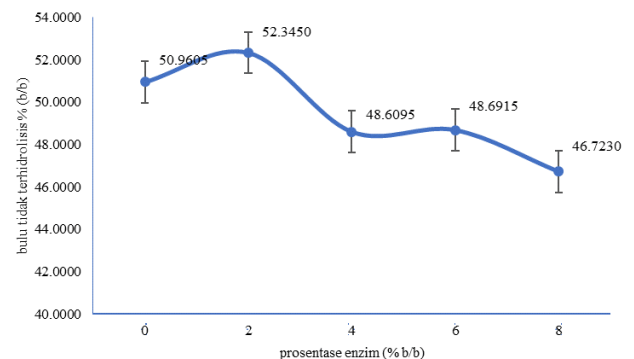
Proses pembuatan hidrolisat keratin dari bulu domba didapatkan hasil hidrolisat keratin dan bulu domba tidak terhidrolisis. Prosentase bulu domba yang tidak terhidrolisis melalui proses basa dan enzim protease disajikan pada Gambar 1.

Bulu domba yang tidak terhidrolisis berkisar antara 46.7230 – 52.3450 % (b/b). Hal ini berarti bulu domba yang dapat terhidrolisis dan menjadi hidrolisat keratin sebanyak 47.655 – 53.277 % (b/b). Perlakuan hidrolisis menggunakan enzim protease sebanyak 8% dapat menghidrolisis bulu domba terbanyak sedangkan enzim protease sebanyak 2% menghidrolisis bulu domba paling rendah.

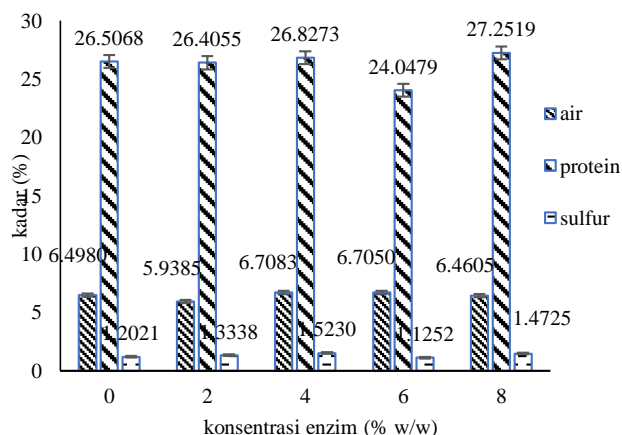
Hidrolisis bulu domba menggunakan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  dan enzim protease menghasilkan bulu domba terhidrolisis sebanyak 24.96 – 54.54% (b/b) menggunakan enzim protease 1, 3, 5% dan waktu 6-24 jam [6].

#### C. Kadar Air, Kadar Protein, dan Sulfur

Kandungan air hidrolisat keratin berkisar antara 5.9385 – 6.7083 % (b/b). Hasil uji kadar air disajikan pada Gambar 2. Kadar protein hidrolisat keratin 24.0479 – 27.2519 % (b/b). Kadar protein disajikan pada Gambar 2. Kadar protein hidrolisat keratin tertinggi pada konsentrasi enzim 8% yaitu sebesar 27.2519 % (b/b). Kadar protein dihitung berdasarkan kadar nitrogen total (metode kjeldahl). Kadar protein hasil penelitian ini lebih tinggi jika dibandingkan kadar protein hidrolisat keratin hasil penelitian [6] yang menghidrolisis bulu domba menggunakan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  selama 24 jam dan enzim protease 5% selama 24 jam dihasilkan protein sebesar 11.1%. Namun, kadar protein lebih rendah jika dibandingkan hasil penelitian [4] yang melaporkan bahwa kadar protein hidrolisat keratin dari bulu domba hasil sampling unhairing yang dihidrolisis menggunakan  $\text{NaOH}$  dan  $\text{H}_2\text{O}_2$  adalah sebesar 60.5 – 64.99%.



Gambar 1. Pengaruh prosentase enzim terhadap bulu domba yang tidak terhidrolisis.

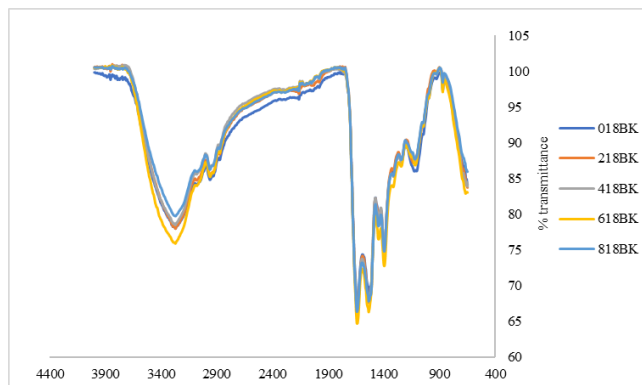


**Gambar 2.** Pengaruh konsentrasi enzim terhadap kadar air, kadar protein dan sulfur

Kadar sulfur dari hidrolisat keratin adalah 1.1252 – 1.4725 %. Kadar sulfur tertinggi pada konsentrasi enzim 8%. Kadar sulfur lebih rendah jika dibandingkan hasil penelitian [6] yang memproduksi hidrolisat keratin dari bulu domba menggunakan  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  selama 6 jam dan enzim protease 1% selama 6 jam dihasilkan kadar sulfur 1.8%. Kadar sulfur menunjukkan tingginya kandungan protein keratin yang salah satu cirinya adalah tingginya asam amino cystin yang mengandung sulfide (sulfur).

#### D. FTIR

Pada spektrum FTIR, zone 1400-4000  $\text{cm}^{-1}$  merupakan zona fungsional group. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan struktur kimia hidrolisat keratin dari tiap konsentrasi enzim protease, serta memiliki pola serupa dengan penelitian keratin sebelumnya. Fungsional group untuk hidrolisat keratin pada penelitian ini terjadi puncak masing-masing pada zona 3272 - 3273; 2961-2962; 1535-1538; 1447-1449  $\text{cm}^{-1}$ , sedangkan dari spektra FTIR hasil penelitian hidrolisis keratin dari bulu domba limbah menggunakan NaOH dan  $\text{H}_2\text{O}_2$  terjadi puncak pada zona 3279, 2962, 1536, dan 1449  $\text{cm}^{-1}$ [1]. Hasil pengujian FTIR disajikan pada Gambar 3.



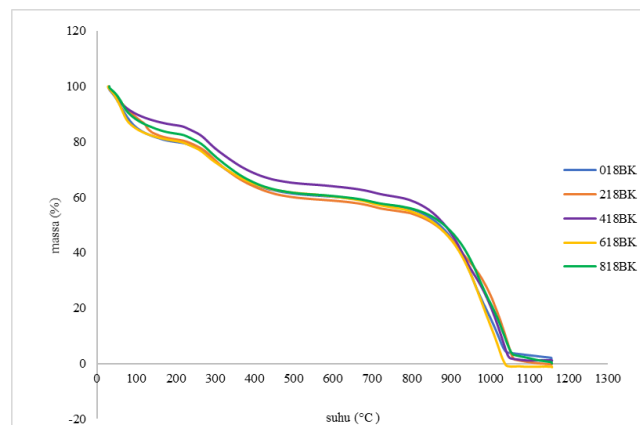
**Gambar 3.** Pengaruh konsentrasi enzim protease terhadap gugus fungsi hidrolisat keratin.

Hidrolisat keratin menghasilkan puncak 1637-1642  $\text{cm}^{-1}$  untuk Amida I, 1535-1538  $\text{cm}^{-1}$  untuk Amida II, dan 1447-1449  $\text{cm}^{-1}$  untuk Amida III, Sisteic acid 1046-1047  $\text{cm}^{-1}$ , Sistin-S-dioksida 1133  $\text{cm}^{-1}$ . Bayramoglu et al., dalam uji FTIR hidrolisat keratin dari bulu domba mengidentifikasi puncak 1634  $\text{cm}^{-1}$  untuk Amida I, 1536  $\text{cm}^{-1}$  untuk Amida II, dan 1449  $\text{cm}^{-1}$  untuk Amida III[1], sedangkan Cardamone et al., mengidentifikasi Amida I 1680-1645  $\text{cm}^{-1}$ , Amida II 1550-1515  $\text{cm}^{-1}$ , Amida III 1435  $\text{cm}^{-1}$ , Sistein-S-sulfonat (Cy-S-SO-3) 1012  $\text{cm}^{-1}$ , Sisteic acid (Cy-SO<sub>3</sub>H) 1045  $\text{cm}^{-1}$ , Sistin-S-monoksida (Cy-SO-S-Cy) 1080  $\text{cm}^{-1}$ , dan Sistin-S-dioksida (CySO<sub>2</sub>-S-Cy) 1137  $\text{cm}^{-1}$  sebagai zona sulfoksida [8].

#### E. Thermogravimetric Analysis (TGA)

Uji TGA dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi enzim pada saat hidrolisis terhadap dekomposisi thermal dari bubuk hidrolisat keratin yang dihasilkan. Hasil uji TGA disajikan pada Gambar 4.

Terjadi degradasi dalam 2(dua) tahap, yaitu tahap pertama pada suhu rendah (suhu < 250°C) dan tahap kedua pada suhu tinggi (suhu > 250°C). Tahap pertama adalah tahap desorpsi atau penguapan air. Desorpsi air selesai sebelum tahap penguraian serat. Air yang terserap didekomposisi pada suhu di bawah 130°C, sekitar 10% berat. Pada tahap kedua terjadi degradasi secara cepat.



**Gambar 4.** Pengaruh konsentrasi enzim protease terhadap TGA hidrolisat keratin.

#### IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa hidrolisat keratin dapat dihasilkan dari bulu domba limbah unhairing penyamakan kulit dengan proses hidrolisis menggunakan NaOH dan enzim protease. Protein yang terkandung pada hidrolisat keratin sebesar 24.0479 – 27.2519 % (b/b) sedangkan protein pada bulu domba adalah 75,67%. Hasil uji FTIR pada hidrolisat keratin menunjukkan adanya gugus amida, cysteic acid, dan cysteine-S-monooxyde.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Balai Besar Kulit, Karet dan Plastik (BBKKP) Yogyakarta yang telah memberikan kesempatan pada penulis untuk melakukan penelitian. Ucapan yang sama disampaikan pada rekan-rekan pejabat Litkayasa dan Peneliti yang telah membantu pelaksanaan penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] E. . Bayramoglu, A. Yorgancioglu, G. Yeldiyar, and E. Onem, "Extraction of keratin from unhairing wastes of goatskin and creating new emulsion formulation containing keratin and calendula flower (*Calendula officinalis* L.)," *J. Am. Leather Chem. Assoc.*, no. February 2014, 2014.
- [2] F. Pourjavaheri, S. Ostovar Pour, O. A. H. Jones, P. M. Smooker, R. Brkljača, F. Sherkat, E. W. Blanch, A. Gupta, and R. A. Shanks, "Extraction of keratin from waste chicken feathers using sodium sulfide and L-cysteine," *Process Biochem.*, vol. 82, pp. 205–214, 2019.
- [3] R. J. Kannahi, M., & Ancy, "Keratin degradation and enzyme producing ability of *Aspergillus flavus* and *Fusarium solani* from soil," *J Chem Pharm Res*, 4, pp. 3245–3248, 2012.
- [4] P. Prayitno, D. Rahmawati, and G. Griyanitasari, "Sheep wool-derived hydrolyzed keratin from tannery waste of the tanning industry using perhydrol," *Maj. Kulit, Karet, dan Plast.*, vol. 33, no. 2, p. 73, 2017.
- [5] P. Kakkar, B. Madhan, and G. Shanmugam, "Extraction and characterization of keratin from bovine hoof: A potential material for biomedical applications," *Springerplus*, vol. 3, no. 1, p. 596, 2014.
- [6] P. Mokrejs, O. Krejci, and P. Svoboda, "Producing keratin hydrolysates from sheep wool," *Orient. J. Chem.*, vol. 27, no. 4, pp. 1303–1309, 2011.
- [7] AOAC, (*Association of Official Analytical Chemists*). *Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists International*, 18th ed. Gathersburg, MD U.S.A Official methods, 2005.08., 2005.
- [8] J. M. Cardamone, "Investigating the microstructure of keratin extracted from wool: Peptide sequence (MALDI-TOF/TOF) and protein conformation (FTIR)," *J. Mol. Struct.*, vol. 969, no. 1–3, pp. 97–105, 2010.